

〔研究〕

緑膿菌の抗体価測定の実験

大宮赤十字病院検査部（部長：横田修）

山本 泰子 森 律子
宇都宮 淳浩 金井 辰男

はじめに

近年、緑膿菌感染症の免疫血清学的検査の試みが、多くの雑誌に報告されている。昭和48年11月、日衛技関東甲信地区学術部主催の緑膿菌講習会を受講したのを機会に、われわれは、本年1月から Microtiter を導入、OEP-HA 反応による緑膿菌抗体価測定をルーチンに実施している。そこで同法について紹介を兼ねて2、3の知見を報告する。

東大医科研細菌研究部の本間らによれば、緑膿菌感染症患者の血清中抗体は血清型で現在本邦に13種類もあり外国由来の型を加えると14種類にも及ぶそうであるが、そのうちのどのような抗体を測定するかが問題である。現在実施できる方法として、一つは凝集素価を測定する方法と、もう一つは感染防御の意味での共通抗原（OEP）の抗体価を測定する二つの方法がある。

OEP-HA 反応

この試薬は緑膿菌内毒素蛋白（OPE）を羊固定血球に感作したもので、Microtiter を用いて、血球凝集反応の形で緑膿菌抗体を測定することができる。OFPは緑膿菌の型共通感染防御抗原なので、いずれの型の抗体も測定できると思われる。

I 組 成

1. 感作血球 (Coated Cell, C.C.)

1 vial 5 ml 分 (25検体分)

Tannin 処理羊固定血球にOEPを感作し、凍結乾燥したもの。

2. 未感作血球 (Tanned Cell, T.C.)

1 vial 5 ml 分 (200検体分)

Tannin 処理羊固定血球を凍結乾燥したもの

3. 希釈液 (Diluent)

1 vial 30ml (25検体分)

正常家兎血清、牛および羊 Stroma を加えた P B S.

II 用意するもの

1. 試薬など
2. 検体 患者血清
3. Microtiter 用器具

Plate : U型 : 12検体につき1枚

Dropper : 0.025ml : 2本

Diluter : 0.025ml : 12本〜

Micromixer : 1台

III 準 備

1. 血清

56°C30分非働化してから Diluent で1 : 10に希釈 (Diluent 0.45ml + 血清0.05ml). 30分以上室温におくか、または一夜氷室に静置 (この間に羊血球に対する異好抗体は Stroma に吸収される.)

2. 感作血球、未感作血球

いずれも希釈液 5 ml を加え溶解。

IV 方 法

1. Plate に 0.025ml Dropper で Diluent を1滴ずつ滴下分注

2. 1 : 10吸収血清を Diluter でとって倍々希釈。

3. 第1列に未感作血球を1滴ずつ滴下分注。第2列以後に感作血球を1滴ずつ滴下分注。Mixer にかけて、空 Plate をのせて、室温に3時間以上静置。判定は他の血球凝集反応 (TPHA) などと同様でよい。未感作血球による対照が完全に陰性であることを要する。(表1を参照)。

V 正 常 値

健康人は大部分、1 : 80以下に分布し、1 : 320またはそれ以上は緑膿菌感染症の疑いがあ

表1 OEP-HA 反応 Protocol

No.	1	2	3	4	5	6	7	8
Diluent	1	1	1	1	1	1	1	1
1 : 5 吸収血清を Diluter でとって倍々希釈								
C. C.		1	1	1	1	1	1	1
T. C.	1							
Micromixer にかけて、空 Plate でふたをして室温 数時間以上静置								
H A 価	対照	80	160	320	640	1280	2560	5120

る。抗体価は1～2週毎に測定すること。ステロイド投与の患者または患者の体力が衰弱している場合（例えばガン患者の末期）には抗体価は上昇しない。緑膿菌は腸管内その他に常在しているが、それが病原性を発揮した場合にだけ上昇する。

検 討

表2は、当院における OEP-HA 反応による緑膿菌抗体価測定成績で、当院耳鼻科の緑膿菌感染症患者で特に培養で緑膿菌を検出した患者に対して実施した成績を表にしたものである、1 : 160以上抗体価を示したものは8例（32%）で、うち

表2 当院における OEP-HA 反応による緑膿菌抗体価測定データー (1)

検体総数		38件
Freeze		2"
Control		1"
抗体価	type I	type II
1 : 40 ↓	4	26
1 : 40	18	12
1 : 80	9	2
1 : 160	7	1
1 : 320	2	0
1 : 640	0	0
1 : 1280	0	0
1 : 2560	0	0
1 : 2560 ↑	1	0
陽性率	24%	2.4%

緑膿菌感染症の患者について25件

8件 (32%) 1件 (4%)

表3 当院における OEP-HA 反応による緑膿菌抗体価測定データー (2)
経時的に明らかな抗体価上昇を示した例

No.	1 回	2 回	3 回
1	1 : 40 ↓ 1 : 40 ↓	1 : 40 1 : 40 ↓	
2	1 : 160 1 : 40	1 : 160 1 : 40	1 : 160 1 : 40
3	1 : 40 1 : 40 ↓	1 : 80 1 : 40	
4	1 : 40 ↓ 1 : 40	1 : 40 1 : 40	
5	1 : 80 1 : 40 ↓	1 : 160 1 : 40 ↓	
6	1 : 320 1 : 40	1 : 2560 ↑ 1 : 80	

註：上段 type I
下段 type II

1例は1 : 2,560以上の異常値をみた。表3は、経時的実施したものであり、例6は第1回1 : 320、第2回1 : 2,560以上を示した例である。但し、この例は最初細菌培養で緑膿菌を検出。経時的に培養検査したが、途中でプロテウス菌との混合感染を起し、さらにプロテウス菌だけの感染に変った例で、緑膿菌とプロテウス菌とは、なんらかの共通抗原構造があるものと思われる。

おわりに

以上、OEP-HA 反応による緑膿菌測定法とその経験を述べたが、さらに今後、整形外科、内科その他の科の緑膿菌抗体価の分布など、検討して行きたい。なお、本法は Microtiter さえあれば、他の赤血球凝集反応と同様充分ルーチン検査として各検査施設で導入してよいと思われる。

附記 本法の試薬ご希望の場合は下記へ御連絡されたい。

東京都文京区目白台3—28—6

東大分院中検 富山 哲雄殿

参考文献

- 1) 本間 遜 (医科研), 富山 哲雄 (東大分院): 緑膿菌講習会テキスト.
- 2) 本間 遜 (医科研): 緑膿菌感染の基礎的研究の動向, 日本細菌学雑誌, 27 (5), 1972.